

EFFECTO DE DIFERENTES DIETAS MICROALGALES EN LA COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS Y AMINOACIDOS DE *OSTREA EDULIS* L.

EFFECT OF DIFFERENT MICROALGAL DIETS ON THE FATTY ACIDS AND AMINOACIDS COMPOSITION IN *OSTREA EDULIS* L.

Iker Uriarte, Ana Farías, Juan B. Peña y Sergio Mestre*

Palabras Clave: Nutrición, ácidos grasos, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), ácidos grasos esenciales (EFA), aminoácidos, microalgas.

Key Words: Nutrition, fatty acids, PUFA, EFA, aminoacids, microalgae.

RESUMEN

El perfil típico de ácidos grasos de *Ostrea edulis* presentó una alta proporción de 16:0, 17:1w7, 18:0, 20:1w9 y 20:5w3. Las mayores variaciones de este perfil como producto de las diferentes dietas se dieron principalmente en los ácidos grasos monoinsaturados 18:1w9 y 20:1w9, y en los poliinsaturados 20:5w3 y 22:6w3. Los perfiles de ácidos grasos de dietas y de ostras no fueron similares. Destacándose la presencia de 20:5w3 y 22:6w3 en ostras alimentadas con dietas que no los contenían, como fue el caso de *T. stellaris* y *D. tertiolecta*. Los perfiles de aminoácidos totales entre dietas y ostras estuvieron altamente correlacionados.

ABSTRACT

Fatty acid profile of tissue from *Ostrea edulis* was characterized for high levels of 16:0, 17:1w7, 18:0, 20:1w9 and 20:5w3. Comparisons of fatty acid of oysters fed on different monoalgal diets demonstrated significative differences in the monounsaturated 18:1w9 and 20:1w9, and the polyunsaturated 20:5w3 and 22:6w3. Profiles of fatty acid of microalgal diets were different from in oyster tissue. This is discussed in the context of desaturation mechanism. Comparison of total aminoacid profiles between diets and oysters showed high correlation.

INTRODUCCION

Los estudios en nutrición de ostras realizados principalmente sobre la especie *Crassostrea virginica* han demostrado la gran importancia de la composición de ácidos grasos en la dieta de estos filtradores para el crecimiento y desarrollo larval, así como su relación con los procesos de crecimiento y reproducción de adultos (TRIDER y CAS-

TELL, 1980 a, b; CHU y WEBB, 1984; WALDOCK y HOLLAND, 1984). De acuerdo con la literatura, los resultados más concluyentes han indicado que las ostras tienen requerimientos de ácidos grasos esenciales (EFA) de las series linolénica (w3) y linoleica (w6) (TRIDER y CASTELL, 1980 a) y que los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA), principalmente el 20:5w3 y 22:6w3, se reducen drásticamente después del desove, siendo

* Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (CSIC). Ribera de Cabanes. 12595 Castellón.

además necesarios durante el crecimiento de las ostras juveniles (TRIDER y CASTELL, 1980 b; WALDOCK y HOLLAND, 1984). Los resultados sobre la importancia de los aminoácidos de las microalgas en la nutrición de bivalvos no han sido concluyentes (EPIFANIO, VALENTI y TURK, 1981; ENRIGHT, NEWKIRK, CRAIGIE y CASTELL, 1986).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la dieta sobre la variabilidad de ácidos grasos y aminoácidos totales de la ostra plana, *Ostrea edulis*, tanto en ejemplares juveniles como en adultos.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ostras juveniles de tallas comprendidas entre 2,0 y 3,0 cm de longitud máxima y ostras adultas de tallas entre 4,0 y 6,0 cm, mantenidas en las condiciones de cultivo mencionadas en FARIAS, URIARTE, PEÑA, SEOANE y ALAGARDA (1987) y en FARIAS, URIARTE, PEÑA, PAREDES y PAREJA (1988). Las microalgas utilizadas durante los experimentos fueron *Skeletonema costatum*, *Isochrysis galbana*, *Thalassiosira stellaris*, *Thalassiosira minima* y *Dunaliella tertiolecta*, cultivadas en volúmenes de 25 l con abono agrario Nutrileaf, a la temperatura ambiente y con luz continua.

Al finalizar el acondicionamiento de 16 semanas en las diferentes dietas, las ostras fueron disecadas y liofilizadas, luego el tejido fue homogenizado y almacenado a -20° C hasta el análisis de la composición en ácidos grasos y aminoácidos.

Para el análisis de ácidos grasos se partió de muestras de 20 mg que se disolvieron en metanol y benceno añadiéndose seguidamente trifluoruro de boro-metanol al 14 %, se selló con nitrógeno y se tapó cuidadosamente, homogeneizando y manteniendo a 100° C durante 9 minutos para verificar la transesterificación. Posteriormente, se añadió agua y éter de petróleo y se centrifugó. Del sobrenadante obtenido se separaron 0,8 ml que fueron evaporados en atmósfera de nitrógeno y redisolu- tos con 40 µl de isoocetano en el momento de la inyección en el cromatógrafo (Varian 1700). Los ésteres metílicos fueron analizados con columnas de cianosilicona (10 % SP-2330) y dietilenglicol succinato (5 % DEGS).

Para el análisis de aminoácidos se tomaron muestras de 1 mg que se hidrolizaron con 3 ml de

HCl 6 N durante 28 horas a 105° C. Al concluir la hidrólisis ácida se evaporó el disolvente en rotavapor y se redisolvió con HCl 0,1 N, el extracto obtenido se filtró con Millipore de 0,45 µm con el fin de purificar las muestras. Seguidamente, se evaporó en rotavapor y se selló con nitrógeno, manteniéndose a -20° C hasta su derivatización con feniltiocianato según el método de PARKER y CORBETT (1986). Cada muestra se derivatizó con 10 µl de una dilución al 10 % de norleucina de 3,3 mg/ml utilizada como estándar interno. Los aminoácidos fueron analizados en un HPLC Konik Serie 500-A, equipado con una columna Ultrasphere ODS de 5 µm.

Los contenidos de ácidos grasos fueron expresados como porcentajes relativos al área total corregida de los cromatogramas y los aminoácidos se expresaron como porcentajes relativos al contenido total, en microgramos, de aminoácidos presentes en la muestra. Los promedios fueron obtenidos luego de la transformación arcosenica de los porcentajes y retransformados para construir las tablas (SOKAL y ROHLF, 1981). Las composiciones en ácidos grasos y aminoácidos de microalgas y de ostras fueron comparadas por correlación a través del paquete estadístico Statgraf.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las ostras después de 12 semanas de acondicionamiento en diferentes dietas mostraron variaciones en la composición relativa de sus ácidos grasos. El perfil típico de la especie (Tablas I y II) se caracterizó por una alta proporción de los ácidos grasos: 16:0, 17:1w7, 18:0, 20:1w9 y 20:5w3.

Las mayores variaciones observadas como resultado de las diferentes dietas se dieron principalmente en los ácidos grasos monoinsaturados 18:1w9 y 20:1w9, y en los poliinsaturados (PUFA) 20:5w3 y 22:6w3, encontrándose los rangos extremos de variabilidad entre las ostras alimentadas con *I. galbana* y *D. tertiolecta*, mientras que los contenidos observados en las ostras alimentadas con las diatomeas *S. costatum*, *T. minima* y *T. stellaris* presentaron valores intermedios entre estas dos especies (Fig. 1 y 2).

Al comparar los patrones de ácidos grasos entre ostras juveniles y adultas, en las mismas condiciones experimentales de dieta, se observaron dife-

TABLA I. *Ostrea edulis*. Composición en ácidos grasos de los lípidos totales de ostras aclimatadas durante cuatro meses en diferentes dietas monoalgales. (Valores expresados como porcentajes del área total corregida).

Acido graso	ostra adulta (% de ácidos grasos)				
	<i>S. costatum</i>	<i>T. minima</i>	<i>T. stellaris</i>	<i>I. galbana</i>	<i>D. tertiolecta</i>
12:0	2.45	3.78	3.21	3.91	
14:0	0.98	0.88	0.82	nd	0.10
14:1	0.85	nd	nd	nd	0.01
15:0	4.79	3.09	1.15	11.49	0.14
16:0	13.86	10.79	11.24	18.52	11.46
16:1	2.85	3.83	3.30	0.88	1.85
17:0	2.15	4.20	3.27	nd	3.91
17:1	9.07	10.45	1.74	nd	7.35
18:0	9.25	8.89	14.03	8.82	13.28
18:1	5.30	4.71	4.79	6.69	2.80
18:2	1.87	1.51	1.49	nd	3.26
18:3	1.72	1.91	1.38	nd	1.26
18:4	nd	nd	nd	nd	0.07
20:1	17.48	13.40	15.26	15.27	8.00
20:4	3.39	4.47	3.91	6.18	3.15
20:5	4.22	4.99	5.23	10.15	1.98
24:0/24:1	0.72	1.92	2.26	2.58	1.66
22:6	3.64	1.56	3.06	4.97	2.17

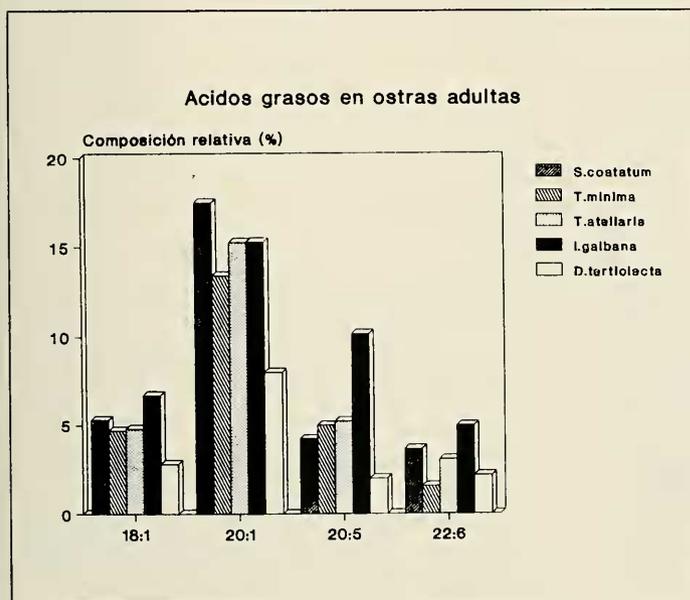


Fig. 1: Porcentaje de ácidos grasos en las ostras alimentadas con las diferentes dietas microalgales.

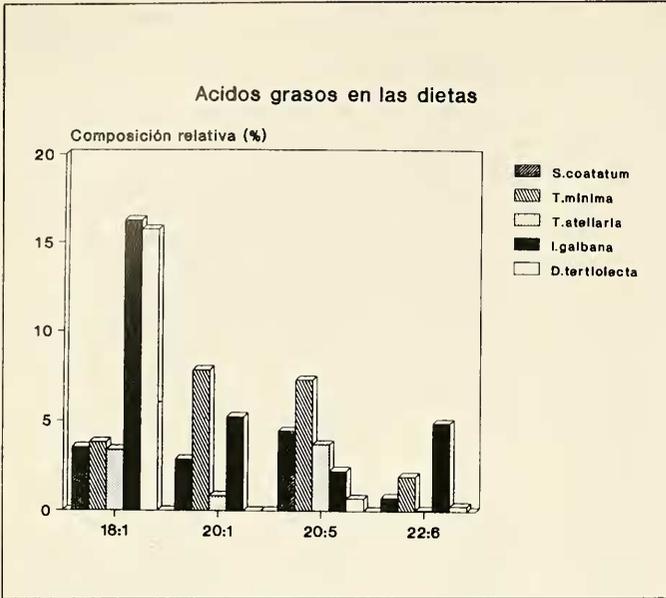


Fig. 2: Porcentaje de ácidos grasos en las diferentes dietas.

rencias en los contenidos relativos de éstos (Fig. 3). Siendo lo más destacable la ausencia de 22:6w3 en las ostras juveniles alimentadas con *Dunaliella* y su aparición en ostras adultas de la misma dieta. También resulta destacable el gran aumento en el contenido relativo de 22:5w3 observado en ostras

adultas alimentadas con *Isochrysis*.

I. galbana, *S. costatum* y *D. tertiolecta* son especies tradicionalmente utilizadas en la alimentación de bivalvos, mientras que *T. stellaris* y *T. minima* son especies en experimentación. Generalmente, se considera que *D. tertiolecta* es la

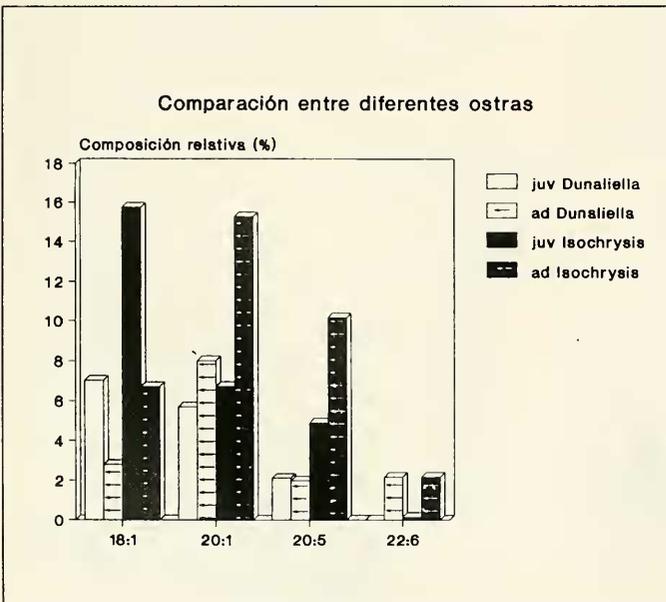


Fig. 3: Comparación del porcentaje de ácidos grasos entre las ostras adultas y las juveniles, alimentadas con dos dietas distintas.

especie más pobre, desde el punto de vista nutritivo, por su deficiencia en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), mientras que *I. galbana* se caracte-

riza por un elevado contenido en 22:6w3 (Tabla II). Por otro lado, las diatomeas utilizadas presentan un elevado porcentaje de 20:5w3 (URIARTE,

TABLA II. *Ostrea edulis*. Composición en ácidos grasos de los lípidos totales de ostras juveniles aclimatadas durante cuatro meses en dietas monoalgales. (Valores expresados como porcentajes del área total corregida).

Acido graso	(% de ácido graso)			
	Dieta		ostra juvenil	
	<i>I. galbana</i>	<i>D. tertiolecta</i>	<i>I. galbana</i>	<i>D. tertiolecta</i>
12:0	0.91	1.04	2.90	1.47
14:0	16.46	0.36	4.35	0.87
14:1	0.94	2.07	nd	0.60
15:0	0.15	nd	4.72	nd
16:0	9.77	20.81	32.26	21.03
16:1	3.39	6.23	2.94	2.22
17:0	1.15	0.54	2.66	2.25
17:1	0.90	1.58	2.02	1.21
18:0	0.23	9.75	9.31	7.08
18:1	16.27	4.37	15.74	7.03
18:2	3.77	3.44	2.53	2.07
18:3	5.34	31.33	0.03	1.99
18:4	14.22	0.37	0.08	nd
20:1	5.23	nd	6.70	5.70
20:4	1.47	0.64	1.74	1.79
20:5	2.23	0.70	4.89	2.12
24:0	nd	0.04	nd	nd
24:1	8.70	0.02	nd	nd
22:6	4.90	0.28	0.14	nd

SEOANE, FARIAS y PEÑA, 1987; URIARTE, 1990) (Tabla III). El contenido bioquímico de las ostras se vio afectado por la composición en ácidos grasos de las microalgas, reflejándose principalmente en el bajo contenido del ácido graso 20:5w3 observado en ostras alimentadas con *D. tertiolecta*, y en el elevado contenido del mismo observado en las otras dietas, principalmente en *I. galbana*.

Por otro lado, la similaridad entre los perfiles de ácidos grasos de la dieta y de las ostras fue bajo

(índices de correlación no significativos) y se observó que a pesar de la no presencia de ácidos grasos considerados esenciales en algunas microalgas, tales como la escasez de 20:5w3 en *D. tertiolecta* y la falta de 22:6w3 en *T. stellaris* y *D. tertiolecta*, estos si se observaron en las ostras, lo que indica la presencia de mecanismos de desaturación de los ácidos grasos w3, como ha sido planteado por WALDOCK y HOLLAND (1984).

Los perfiles de los aminoácidos totales (Tabla

TABLA III. Composición en ácidos grasos de las diatomeas *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira minima* y *T. stellaris* (tomado de URIARTE, 1990).

Acido graso	(% de ácido graso)		
	<i>S. costatum</i>	<i>T. minima</i>	<i>T. stellaris</i>
12:0	2.28	nd	2.08
14:0	7.30	0.67	5.54
14:1w5	3.91	1.12	nd
15:0	0.92	nd	0.65
16:0	12.61	4.49	20.03
16:1w7	22.77	3.91	23.12
17:0	5.69	0.22	6.83
17:1w7	3.49	1.74	2.97
18:0	2.36	2.75	2.63
18:1w9	3.54	3.85	3.38
18:2w6	1.50	1.25	2.42
18:3w3	1.38	5.16	1.61
18:4w3	1.34	nd	2.77
20:1w9	2.86	7.86	0.85
20:3w3	0.96	nd	nd
20:4w3	nd	nd	1.69
20:5w3	4.44	7.31	3.69
24:1w9	nd	2.40	nd
22:6w3	0.79	1.93	nd

IV) mostraron gran similitud en su composición relativa entre dietas y ostras. Tanto *Isochrysis* como *Dunaliella* presentaron cantidades significativas de la mayoría de los aminoácidos considerados esenciales: valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histidina, arginina, treonina y

triptófano (CECCALDI, GALGANI, BENYAMIN, VÁZQUEZ-BOUCARD, MOUREAU y FRANCOIS, 1984), siendo el triptófano el único que se encuentra en escasa cantidad en *Isochrysis*, lo que se refleja únicamente en ostras juveniles alimentadas con esta especie.

TABLA IV. *Ostrea edulis*. Composición en aminoácidos totales de ostras aclimatadas durante cuatro meses en diferentes dietas monoalgales. (Los valores están expresados como porcentajes del contenido total de aminoácidos)

aminoácido	dieta		ostras juveniles		ostras adultas	
	Iso	Dun	Iso	Dun	Iso	Dun
Ac. aspártico	1.75	2.09	3.38	0.11	2.29	1.22
Ac. glutámico	1.73	2.07	3.80	1.45	2.86	1.94
hprolina	0.92	0.30	0.79	0.33	0.73	0.79
serina	1.46	1.45	1.34	2.02	2.08	1.50
glicina	3.53	3.47	2.85	2.74	3.77	3.42
histidina	5.90	5.11	16.00	18.80	13.00	19.16
treonina	5.33	4.38	2.30	2.65	2.60	3.61
arginina	10.53	12.94	11.43	11.30	14.27	12.94
alanina	nd	1.23	3.70	3.98	0.50	2.74
prolina	5.42	5.25	4.75	5.22	6.18	5.59
tirosina	17.01	11.92	8.14	10.52	5.13	8.62
valina	3.38	3.84	3.44	2.74	4.00	3.24
metionina	6.63	7.30	5.77	6.01	6.15	5.72
cisteina	6.46	6.29	7.32	5.73	5.96	5.64
isoleucina	5.71	5.37	5.90	5.10	7.69	2.40
leucina	6.86	8.08	4.59	5.39	6.55	2.39
fenilalanina	10.48	9.38	4.73	5.23	6.62	8.28
triptófano*	0.64	2.13	0.78	1.58	1.29	1.64
lisina	3.90	6.26	7.00	7.93	6.72	8.52

BIBLIOGRAFIA

- CECCALDI, H. J., GALGANI, F., BENYAMIN, I., VÁZQUEZ-BOUCARD, C., MOUREAU, C., FRANCOIS, B. 1984. Aquaculture et biochemie marine. *Oceanis*, 10(4): 449-464.
- CHU, F. E. y WEBB, K. L. 1984. Polyunsaturated fatty acids and neutral lipids in developing larvae of the oyster *Crassostrea virginica*. *Lipids*, 19 (11): 815-820.
- ENRIGHT, C. T., NEWKIRK, G. F., CRAIGIE, J. S. y CASTELL, J. D. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 96(1): 1-13
- EPIFANIO, C. E., VALENTI, C. C. y TURK, C. L. 1981. A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*, 23: 347-353.
- FARIAS, A., URIARTE, I., PEÑA, J. B., SEOANE, J. y ALAGARDA, A. 1987. Aspectos comparativos en el balance energético de *Ostrea edulis* L. alimentada en dos dietas monoalgales. *Cuad. Marisq. Publ. Téc.*, 12: 449-452.
- FARIAS, A., URIARTE, I., PEÑA, J. B., PAREDES, F. y PAREJA, O. 1988. Variación del contenido calórico de *Ostrea edulis* L. *Iberus* (en prensa).
- PARKER, M. y CORBETT, J. 1986. The qualitative amino acid analysis of two supplied protein hydrolysate samples using pre-column derivatization with phenyl-isothiocyanate and reverse phase HPLC techniques. Beckman-RIIC. *Application Report*: 1-9
- SOKAL, R. y ROHLF, F. 1981. *Biometry*. Freeman W. New York. 859 pp.
- TRIDER, D. J. y CASTELL, J. D. 1980 a. Influence of neutral lipid on seasonal variation of total lipid in oysters *Crassostrea virginica*. *Proc. Nat. Shellfish Ass.*, 70: 112-118.
- TRIDER, D. J. y CASTELL, J. D. 1980 b. Effect of dietary lipids on growth, tissue composition and metabolism of the oyster *Crassostrea virginica*. *J. Nutr.*, 110: 1303-1309.
- URIARTE, I., SEOANE, J., FARIAS, A. y PEÑA, J. 1987. Aspectos citológicos, bioquímicos y fisiológicos de dos nuevas especies de diatomeas (familia Thalassiosiraceae) para la Acuicultura. *Cuad. Marisq. Publ. Téc.*, 12: 511-516.
- URIARTE, I. 1990. *Estudio comparativo de la citología, fisiología y bioquímica de diatomeas marinas de la familia Thalassiosiraceae Lebour, emend. Hasle 1973, y su aplicación experimental en la alimentación de organismos zooplanctónicos*. Tesis doctoral. Univ. Barcelona. 298 pp.
- WALDOCK, M. J. y HOLLAND, D. L. 1984. Fatty acid metabolism in young oysters *Crassostrea gigas*: polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 19 (5): 332-336.

